

## (C) WPI / DERWENT

AN - 1995-272841 [36]  
 AP - JP19940246428 19941012  
 CPY - ASAH  
 DC - B04 D16  
 DR - 1210-U 1655-U 1874-U  
 FS - CPI  
 IC - A61K9/14 ; A61K9/19 ; A61K38/23 ; A61K47/18  
 MC - B04-C01 B14-E10B B14-F02D B14-N01 D05-C01 D05-C11  
 M1 - [01] D011 D601 F012 F014 F423 F521 G010 G013 G100 H1 H100 H101 H181  
 H182 H4 H401 H441 H481 H5 H598 H8 H9 J0 J011 J012 J1 J111 J171 J172 J3  
 J311 J371 K0 K2 K224 L2 L250 M210 M211 M271 M280 M281 M311 M312 M313  
 M314 M315 M320 M321 M322 M331 M332 M333 M340 M342 M343 M349 M371 M381  
 M391 M392 M423 M431 M510 M511 M520 M521 M530 M531 M540 M620 M782 M903  
 M904 M910 P440 P450 P527 P528 P714 P732 Q233 V0 V917 V922; R01874-M;  
 1874-U  
 M2 - [02] H1 H101 H182 J0 J011 J1 J171 M280 M315 M321 M332 M343 M349 M381  
 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 P440 P450 P527 P528 P714 P732  
 Q233 Q620; R01655-M; 1655-U  
 - [03] H1 H100 H181 J0 J011 J1 J171 M280 M312 M321 M331 M340 M342 M349  
 M381 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 P440 P450 P527 P528 P714  
 P732 Q233 Q620; R01210-M; 1210-U  
 PA - (ASAH ) ASAH KASEI KOGYO KK  
 PN - JP7173074 A 19950711 DW199536 A61K38/23 007pp  
 PR - JP19930268887 19931027  
 XA - C1995-123435  
 XIC - A61K-009/14 ; A61K-009/19 ; A61K-038/23 ; A61K-047/18  
 AB - J07173074 Thermostable lyophilised cake form prods. comprises  
 effective ingredient of calcitonin gene related peptide (CGRP) and  
 effective amounts of L-lysine and L-alanine as stabilisers, is partic.  
 prepd. by lyophilisation of aq. solns. of CGRP and effective amounts  
 of L-lysine and L-alanine as stabilisers.  
 - USE - CGRP are active to bone metabolism, CNS, increase of pulse rate,  
 vascular dilation and gastric acid secretion. Dosage is 0.1-500 micro  
 g. Thermostable lyophilised cake form CGRP.  
 - One pt.wt. of CGRP or their salts (e.g. HCl, H2SO4, H3PO4, AcOH,  
 tartaric, succinic, citric and malic acid salts) are mixed with  
 L-lysine and L-alanine at ratios of 0.2-100,000, pref. 2-10,000  
 pts.wt., in which L-lysine and L-alanine are mixed at ratios of  
 1:0.01-1 pt.wt.. The resultant mixt. is dissolved in aq. medium (e.g.  
 distilled water for injection, saline soln. opt. contg. non-toxic  
 water soluble organic solvent such as a small amount of EtOH) and the  
 other conventional additives for injection and lyophilised The  
 lyophilised prods. are dissolved in distilled water for injection,  
 saline soln. or 5% glucose soln. before use and administered e.g. by  
 drip infusion.  
 - In an example, 50ml of sterilised distilled water, 1 mg of  
 desalanyl-deamino-chicken-CGRP, 2,000 mg of L-lysine and 300 mg of  
 L-alanine were dissolved, aseptically filtered, poured 0.5 ml each in  
 vials and lyophilised to give the aimed compsns. The compsn. was  
 stable for a week without loss of physical properties.(Dwg.0/0)  
 CN - R01874-M R01655-M R01210-M  
 DRL - 1874-U 1655-U 1210-U  
 IW - STABILISED LYOPHILISE CALCITONIN GENE RELATED PEPTIDE COMPRISE  
 CALCITONIN GENE LYSINE ALANINE STABILISED  
 IKW - STABILISED LYOPHILISE CALCITONIN GENE RELATED PEPTIDE COMPRISE  
 CALCITONIN GENE LYSINE ALANINE STABILISED  
 NC - 001

OPD - 1993-10-27

ORD - 1995-07-11

PAW - (ASAHI ) ASAHI KASEI KOGYO KK

TI - Stabilised and lyophilised calcitonin gene related peptide - comprises  
calcitonin gene and L-lysine and L-alanine as stabilisers

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-173074

(43)公開日 平成7年(1995)7月11日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup> 識別記号 庁内整理番号 F I 技術表示箇所  
A 6 1 K 38/23  
9/14  
9/19

A 6 1 K 37/ 30

9/ 14

L

審査請求 未請求 請求項の数2 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平6-246428	(71)出願人	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(22)出願日	平成6年(1994)10月12日	(72)発明者	荻島 素弘 静岡県田方郡大仁町三福632番地の1 旭 化成工業株式会社内
(31)優先権主張番号	特願平5-268887	(74)代理人	弁理士 小林 和憲
(32)優先日	平5(1993)10月27日		
(33)優先権主張国	日本 (J P)		

(54)【発明の名称】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類の凍結乾燥組成物および安定化法

(57)【要約】

【構成】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 類を有効成分とし、安定化剤として、有効量のL-リジンおよびL-アラニンを含有することを特徴とする熱に対して安定であり、かつケーキ状態の優れた凍結乾燥組成物、およびCGRP類と上記の安定化剤を水性媒体に溶解した後、凍結乾燥することを特徴とするCGRP類の安定化法である。

【効果】 CGRP類を凍結乾燥して製剤化するに際し、安定化剤としてL-リジンおよびL-アラニンを併用することにより、長期間安定で、安全性が高く、かつケーキ状態、均一性、機械的強度、吸湿性および溶解性の良好な商品価値の高いCGRP類の凍結乾燥組成物を得ることが可能となる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類を有効成分とし、安定化剤として有効量の L-リジンおよび L-アラニンを含むことを特徴とする熱に対して安定であり、且つケーキ状態の優れた凍結乾燥組成物。

【請求項 2】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類と安定化剤として有効量の L-リジンおよび L-アラニンを水性媒体に溶解した後、凍結乾燥することを特徴とするカルシトニン遺伝子関連ペプチド類の安定化法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（以下、「CGRP」と略す）類を有効成分とする凍結乾燥組成物および CGRP 類の安定化法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 CGRP 類は、カルシトニンと構造的に異なっているが、カルシトニンと同じ遺伝子から導かれる一群のペプチドであって、ヒト、ニワトリ、ラット、ブタなどの由来の CGRP 類およびその誘導体が知られている。

【0003】 ヒト CGRP (h-CGRP) は骨代謝、中枢神経系に作用するペプチドとして知られている [Nature, 308 (19), 746-748 (1984), FEBS Letters, 183 (2), 403 (1985), Neuropeptides, 4, 425-434 (1984), Nature, 313 (3), 54-56 (1984)]。

【0004】 ブタ CGRP (p-CGRP) は心拍数上昇作用を有するペプチドとして知られている [Neuropeptides, 9, 75-82 (1987)]。ラット CGRP (r-CGRP) は血管拡張作用、胃酸分泌抑制作用などを有するペプチドとして知られている [British J. Pharmacol., 86, 544 (1985), Regulatory Peptides, 12, 81-89 (1985)]。

【0005】 また、h-CGRP 誘導体、ニワトリ CGRP (c-CGRP) および c-CGRP 誘導体は血清カルシウム、リン低下作用活性を有するペプチドとして知られている（特開昭 62-129297 号公報、特開昭 63-126894 号公報、特開昭 63-258490 号公報、特開昭 64-26598 号公報）。CGRP 類は上記の通り、様々な生理作用を有することから、幅広い臨床応用が期待されている。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】 少量のペプチドや蛋白質等を凍結乾燥して製剤化する場合、賦形剤を添加することが必須である。この賦形剤としては、マンニトールが最も繁用されているが、マンニトールを CGRP 類の凍結乾燥における賦形剤として使用したとき、その安定

化効果については、あまり認められない。一方、凍結乾燥における安定化剤としてゼラチン、ヒト血清アルブミン等の高分子物質が用いられているが、これらは、安定化効果は高いが、免疫学的な安全性に問題がある場合が多い。

【0007】 また、安定化剤としてアミノ酸を添加することにより、安定性の向上が見られることが、一部の蛋白質などで報告されているが、CGRP 類については不明であった。

## 10 【0008】

【課題を解決するための手段】 このような問題点を解決すべく、安全で安定な製剤処方を得るため、種々研究を続けた結果、一般によく使用されているマンニトール、マルトース等は熱に対する安定化効果は認められなかった。また、グルコース、ガラクトース、マンノース、ソルビトール、フルクトース等を使用した場合は、固くて良好な凍結乾燥物が得られず、熱に対する安定化効果も認められなかった。従って、これら熱安定化に通常用いられる糖類の単独での使用は、CGRP 類の安定化剤としては適当ではなかった。

【0009】 一方、アミノ酸類の中では、L-リジン、L-グルタミンおよび L-メチオニンに限り、優れた熱に対する安定化効果があり、CGRP 類の安定化剤として有用であることを見出したが、一部の蛋白質製剤において使用されているグリシン、L-アラニン、L-ロイシンなどのアミノ酸では、殆ど熱に対する安定化効果が見られなかった。同様に蛋白質、ペプチド製剤でよく使用されているヒト血清アルブミン等の高分子物質は CGRP 類に限り熱に対する安定化効果が見られなかった。

【0010】 しかしながら、CGRP 類の安定化剤としては、熱に対して安定化効果を有するだけでなく、商品価値の高い製剤、例えば、(1) 凍結乾燥品がケーキ状態であること、(2) 凍結乾燥品が均一であること、

(3) 機械的強度を与えても形状が崩壊し難く、不動であること、(4) 水分を吸湿し難いこと、(5) 溶解液に対して速やかに溶解するような優れた溶解性を有すること、等の優れた凍結乾燥品の製剤化に寄与する性質が要求される。

【0011】 そこで、本発明者は上記のような製剤を見出すべく、更に研究を続けた結果、意外にも、有効成分である CGRP 類に対して、L-リジンおよび L-アラニンを併用した場合に限り、熱に対する優れた安定化効果が見られるだけでなく、かつ上記のような商品価値の高い凍結乾燥組成物が得られることを見出した。

【0012】 本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、即ち、本発明は、CGRP 類を有効成分とし、安定化剤として有効量の L-リジンおよび L-アラニンを含むことを特徴とする熱に対して安定であり、かつケーキ状態の優れた凍結乾燥組成物を提供することである。

【0013】また、本発明の目的は、CGRP類と安定化剤として有効量のL-リジンおよびL-アラニンを水性媒体に溶解した後、凍結乾燥することを特徴とするCGRP類の安定化法を提供することである。

【0014】先ず本発明の有効成分であるCGRP類とは、CGRP、その誘導体またはそれらの塩である。CGRPおよびその誘導体は公知のペプチド合成法、例えば、液相法、固相法により製造される。CGRPの例としては、h- $\alpha$ -CGRP、h- $\beta$ -CGRP、c-CGRP、r- $\alpha$ -CGRP、r- $\beta$ -CGRP、p-CGRP等が挙げられる。

【0015】CGRP誘導体の例としては、デスアラニル-デアミノ-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-h- $\beta$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-h- $\beta$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Phe<sup>11</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、

【0016】デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Phe<sup>11</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、

【0017】[Asp<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asp<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、

【0018】[Glu<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Glu<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-c-CGRP、デスアラニル-[Asp<sup>3</sup>, Asu<sup>2,7</sup>]-c-CGRP、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP、デスアラニル-デアミノ-[(4-F-Phe)<sup>27</sup>]-c-CGRP等が挙げられる。

【0019】上記のCGRP誘導体の製造は、例えば、特開昭62-129297号、特開昭63-126894号、特開昭63-258490号、特開昭64-26598号等に記載されている。

【0020】前記のCGRPまたはその誘導体の塩としては、薬理学的に非毒性の塩が適宜使用される。例えば、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸との塩、酢酸、酒石酸、コハク酸、クエン酸、リンゴ酸などの有機酸との塩が挙げられる。

【0021】本発明に用いられるCGRP類の使用量は、医薬品として有効な生理活性作用を発現する量を用

いればよく、通常、1回投与当り、0.1~500 $\mu$ g程度になるよう調製すればよい。

【0022】CGRP類の安定化剤としてはL-リジンおよびL-アラニンが併用される。上記安定化剤の添加量は、CGRP類1重量部に対し、0.2~100.000重量部程度が好ましく、さらに好ましくは2~10.000重量部程度添加すればよい。L-リジンに対するL-アラニンの比率はL-リジン1重量部に対し0.01~1重量部程度でよい。

【0023】CGRP類と安定化剤を溶解する水性媒体としては、例えば注射用蒸留水、生理食塩水などが例示される。さらに上記の水性溶媒は毒性を示さない限り水溶性有機溶媒、例えば少量のエタノール等を含んでもよい。

【0024】本発明の凍結乾燥組成物を製造するには、例えば、上記の組成のCGRP類、安定化剤を、必要に応じて適宜公知のpH調整剤、等張化剤、安定化剤、増量剤、防腐剤等を混合し、上記の水性媒体に溶解して無菌濾過し、常法に基づいて凍結乾燥すればよい。この凍結乾燥には、通常用いられている条件下でトレー凍結乾燥、バイアル凍結乾燥等の公知の凍結乾燥法が採用できる。

【0025】このようにして得られたCGRP類の凍結乾燥組成物は、用時、注射用蒸留水、生理食塩水、5%ブドウ糖注射液などに溶解し、点滴などにより投与される。

【0026】

【実施例】以下に、実施例および参考例を挙げて、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。尚、実施例および参考例で用いたCGRP類は、前記の公知の文献に従って、全て旭化成工業が合成したものを使用した。

【0027】実施例1

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン100mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10 $\mu$ g、L-リジン10mgおよびL-アラニン1mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤（本発明品1）を得た。

【0028】実施例2

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10 $\mu$ g、L-リジン10mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤（本発明品2）を得た。

## 【0029】実施例3

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤（本発明品3）を得た。

## 【0030】実施例4

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン300mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン3mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤（本発明品4）を得た。

## 【0031】実施例5

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン100mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP100μg、L-リジン10mgおよびL-アラニン1mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0032】実施例6

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP100μg、L-リジン10mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0033】実施例7

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP100μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0034】実施例8

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン300mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、

窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP100μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン3mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0035】実施例9

h-α-CGRP1mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン100mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP10μg、L-リジン10mgおよびL-アラニン1mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0036】実施例10

h-α-CGRP1mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP10μg、L-リジン10mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0037】実施例11

h-α-CGRP1mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP10μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0038】実施例12

h-α-CGRP1mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン300mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP10μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン3mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0039】実施例13

h-α-CGRP10mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン100mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP100μg、L-リジン10mgおよびL-アラニン1mgを含有する用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

## 【0040】実施例14

h-α-CGRP10mg、L-リジン1000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP100μg、L-リジン10mg

10

20

30

40

50

およびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤を得た。

【0041】実施例15

h-α-CGRP10mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン200mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP100μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン2mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤を得た。

【0042】実施例16

h-α-CGRP10mg、L-リジン2000mgおよびL-アラニン300mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、h-α-CGRP100μg、L-リジン20mgおよびL-アラニン3mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤を得た。

【0043】参考例1

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびマンニット500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびマンニット5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品1）を得た。

【0044】参考例2

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびL-アラニン500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびL-アラニン5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品2）を得た。

【0045】参考例3

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびL-リジン1000mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびL-リジン10mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品3）を得た。

【0046】参考例4

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびL-ロイシン1000mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびL-ロイシン10mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品4）を得た。

【0047】参考例5

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびグルコース500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびグルコース5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品5）を得た。

【0048】参考例6

10 デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびガラクトース500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびガラクトース5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品6）を得た。

【0049】参考例7

20 デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびマンノース500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびマンノース5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品7）を得た。

【0050】参考例8

30 デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびソルビトール500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびソルビトール5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品8）を得た。

【0051】参考例9

40 デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgおよびフルクトース500mgを無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスバイアルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後巻き締めし、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP10μgおよびフルクトース5mgを含有する用時溶解型凍結乾燥剤（対照品9）を得た。

【0052】

【発明の効果】

1. CGRP類安定化試験

（1）試験方法

前記の実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々を50℃にて3ヵ月保存した後、次の条件による高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いてCGRP類の含量を測定し、巻き締め直後の含量を100%として残存率を求めた。

50 【0053】HPLC測定条件

カラム：YMC AM-302 ODS S-5 120 Å (YMC社製)、内径4.6×150mm

移動層：0.1%トリフルオロ酢酸：アセトニトリル＝70：30

流速：1.0ml/分

検出：220nm

## (2) 試験結果

後記の通り。

### 【0054】2. ケーキ状態試験

#### (1) 試験方法

実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々のケーキ状態の外観を観察し、ケーキ状態を以下の記号で示した。

○：ケーキ状態を示すもの

△：ややケーキ状態の悪いもの

×：ケーキ状態を示さないもの

#### (2) 試験結果

後記の通り。

### 【0055】3. 凍結乾燥品の均一性の試験

#### (1) 試験方法

実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々の凍結乾燥品の均一性の外観を観察し、その均一性について以下の記号で示した。

○：均一性に優れたもの

△：やや均一性の悪いもの

×：均一性の悪いもの

#### (2) 試験結果

後記の通り。

### 【0056】4. 機械的強度試験

#### (1) 試験方法

実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々

を約50cmの高さから実験台上に落下させ、ケーキが壊れるかどうかを観察し、その結果を以下の記号で示した。

○：ケーキが殆ど壊れないもの

×：ケーキが壊れるもの

#### (2) 試験結果

後記の通り。

### 【0057】5. 吸湿性試験

#### (1) 試験方法

10 実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々を室温に1週間放置し、ケーキが吸湿するかどうかを試験し、その結果を以下の記号で示した。

○：吸湿するもの

×：吸湿しないもの

#### (2) 試験結果

後記の通り。

### 【0058】6. 溶解性試験

#### (1) 試験方法

20 実施例で得た本発明品1～4および対照品1～9の各々に水1mlを加え、その溶解時間を測定し、その結果を以下の記号で示した。

○：水を加えてから5秒以内に溶解するもの

△：水を加えてから30秒以内に溶解するもの

×：水を加えてから30秒以上溶解時間を要するもの

#### (2) 試験結果

後記の通り。

【0059】各被験試料のCGRP類の残存率、ケーキ状態、均一性、機械的強度、吸湿性および溶解性の試験結果を表1に示した。

30 【0060】

【表1】



被験試料	残存率 (%)	ケーキ 状態	均一性	機械的 強度	吸湿性	溶解性
本発明品 1	102.5	○	○	○	○	○
本発明品 2	102.7	○	○	○	○	○
本発明品 3	102.4	○	○	○	○	○
本発明品 4	103.8	○	○	○	○	○
対照品 1	73.3	○	○	×	○	○
対照品 2	61.6	○	△	○	○	○
対照品 3	100.5	×	×	×	○	○
対照品 4	70.3	○	○	○	○	×
対照品 5	14.9	×	×	×	×	○
対照品 6	9.9	×	×	×	×	○
対照品 7	8.5	×	×	×	×	○
対照品 8	57.0	×	×	×	×	○
対照品 9	16.1	×	×	×	×	○

【0061】以上の試験結果から明らかな通り、CGRP類を凍結乾燥して製剤化した凍結乾燥組成物は、安定化剤としてL-リジンおよびL-アラニンを併用した場合は、熱に対する安定性が優れ、かつケーキ状態、均一性、機械的強度、吸湿性および溶解性が良好な製剤を得ることができる。

【0062】これに対し、マンニット単独ではケーキ状態、均一性、吸湿性および溶解性は良好ではあるが、熱安定性および機械的強度は認められない。また、L-リジン単独では熱安定性、吸湿性および溶解性に優れているが、ケーキ状態、均一性および機械的強度が認められない欠点あり、L-アラニン単独では熱安定性に欠け、\*

\*さらに均一性がやや劣る。L-ロイシン単独では熱安定性および溶解性が認められない。

【0063】さらにまた、グルコース、ガラクトース、マンノース、ソルビトールおよびフルクトースを各々単独に使用した場合は、熱安定性に欠け、さらにケーキ状態、均一性、機械的強度および吸湿性が認められない。

【0064】従って、CGRP類を凍結乾燥して製剤化する場合、安定化剤としてL-リジンおよびL-アラニンを併用した場合に限り、熱に対する安定性に優れ、かつケーキ状態、均一性、機械的強度、吸湿性および溶解性の良好な商品価値の高い凍結乾燥組成物を提供することができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

A61K 47/18

識別記号

片内整理番号

J

F I

技術表示箇所

A61K 9/14

E